Ai amici maestro
e ricordo
A. Cesaris Demel

Istituto di Anatomia Patologica della R. Università di Pisa
(Prof. A. Cesaris-Demel)

8
510

Prof. A. CESARIS-DEMEL

Sull'origine delle piastrine dai megaciriociti

Estratto dall'*Archivio per le Scienze Mediche*
Vol. XXXVIII. N. 14.

BIELLA
Stabilimento Tipografico G. Testa
1914

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE — VOL. XXXVIII. N. 14

Istituto di Anatomia Patologica della R. Università di Pisa
(Prof. A. Cesaris-Demel)

Prof. **A. CESARIS-DEMEL**

Sull'origine delle piastrine dai megacariociti

(Tavole XIV - XV).

La controversa questione sull'origine delle piastrine nel sangue dei mammiferi, noi possiamo e dobbiamo ritenerla oggi risolta. Le piastrine derivano dai megacariociti. L'affermazione non è nuova e già nel 1906 *Wright* (1-2), in un suo lavoro veramente classico sull'argomento, ne diede una precisa dimostrazione. Il lavoro di *Wright* però non ebbe fortuna e gli mancò e gli manca tuttora quel largo consenso di conferme e di approvazioni che era necessario per far entrare la sua geniale teoria tra i fatti sicuri e dimostrati. Forse ciò dipese dalla soverchia concisione della sua esposizione e dalla scarsa chiarezza delle microfotografie da lui portate a sostegno del suo asserto. *Wright* adoperando per animale d'esperimento il gatto (e vedremo poi come il gatto sia veramente l'animale di elezione per queste ricerche) ed esaminando sezioni di organi ematopoietici fissati e colorati con un suo metodo (3) speciale (*a*) arriva alla conclusione che le piastrine sono particelle separate per strozzamento dal protoplasma dei megacariociti. Questa separazione avviene in alcuni prolungamenti che a guisa di pseudopodi si irradiano dal citoplasma dei megacariociti e penetrano nei vasi capillari vicini. Il fatto è visibile tanto

(*a*) Egli fissa il tessuto in alcool metilico e dopo averne colorate le sezioni col metodo già da lui precedentemente proposto per la colorazione di strisce di sangue secondo il metodo di Leishmann e col quale si ottiene la differenziazione policromatofila di *Romanowsky* le disidrata e rischiara con una miscela di acetone e trementina e le include in trementina e pece greca.

nei megacariociti del midollo e della milza quanto in quelli che si trovano incuneati nei capillari polmonari. Nel citoplasma dei megacariociti egli distingue due parti: una centrale fatta di granuli azzurrofili molto vicini tra loro, e una periferica ialina; la prima assolutamente simile, per la forma, il volume, la colorabilità delle granulazioni, alla massa granulare centrale delle piastrine (cromomero), la seconda assolutamente simile alla parte periferica ialina delle piastrine (ialomero).

Anche nei pseudopodi, che talora dànno delle gemmazioni laterali che si individualizzano successivamente in piastrine, la massa granulare è centrale e la ialina periferica in diretta continuazione con la massa ialina periferica del citoplasma. Dalle estremità poi degli pseudopodi aventi rapporti diretti coi capillari, si differenziano e si staccano delle piccole masse, granulari al centro e ialine alla periferia, che sono vere e proprie piastrine, giacchè hanno tutti i caratteri morfologici e cromatici coi quali noi sappiamo riconoscere sempre le piastrine del sangue circolante. Questi fini dettagli istologici sono corredati dall'A. da parecchie microfotografie, che se sono forse comprensibili e dimostrative per chi abbia potuto dell'interessante fenomeno personalmente convincersi coll'osservazione diretta al microscopio, non lo sono per chi non abbia ancora fatta questa propria e personale esperienza. L'A. aggiunge poi a sostegno della sua tesi alcuni fatti che indirettamente la comprovano e che credo utile di ricordare. Sono i seguenti:

1.° — Il continuo distacco di piccole particelle dalla massa protoplasmatica dei megacariociti per formare sempre nuove piastrine, e, specialmente se queste si producono in eccesso, ci spiega perchè molte volte nei preparati di organi ematopoietici noi troviamo i megacariociti con scarso protoplasma e ridotti talora alla sola loro massa nucleare.

2° — In condizioni normali nelle quali si formano poche piastrine, solo in pochi megacariociti si trovano degli pseudopodi in attività formativa.

3.° — Nei preparati su porta-oggetti riscaldati si può dimostrare che gli stessi movimenti e la stessa emissione di

prolungamenti, già descritti da alcuni autori nelle piastrine sono presentati anche dal citoplasma dei megacariociti nella sua parte ialina periferica.

4° — Le piastrine si trovano solo nel sangue dei mammiferi, cioè in tutti quegli animali che posseggono megacariociti e mancano negli uccelli, rettili, anfibî nei quali non si trovano mai megacariociti e per questa considerazione *Wright* si rifiuta di ammettere l'identità tra gli elementi fusiformi (ematoblasti di *Hayem*) presenti nel sangue di questi animali e le piastrine dei mammiferi (*a*).

5.° — Studiando la comparsa dei varî elementi nel sangue embrionale si vede che le piastrine compaiono solo successivamente alla comparsa dei megacariociti.

6.° — Nelle anemie gravi (anemia perniciosa progressiva, leucemia linfoide, ecc.) nelle quali si trovano poche piastrine circolanti si trovano anche pochi megacariociti nel midollo.

Con queste sue osservazioni *Wright* veniva a confermare le osservazioni fatte da *Schridde* (6), nell'anno precedente, (1905) sui megacariociti del sangue umano. *Schridde* infatti colorando i megacariociti con Azzurro II ed Eosina descrive nell'uomo, nell'interno del grosso nucleo polimorfo dei megacariociti ed in una larga zona circostante del citoplasma, una fitta e minuta granulazione mentre all'esterno si ha un orlo marginale ialino senza granulazioni. *Schridde* (7) conosciuto il lavoro di *Wright* ne volle controllare le conclusioni e per conto suo non riuscì a confermarle. Ciò dipese, come osserva giustamente *Ogata*, dall'avere egli sempre adoperato materiale umano e quindi poco fresco e poco adatto a controllare le osservazioni di

---

(*a*) Io mi associo pienamente a questa opinione che viene ad avvalorare sempre più l'ipotesi già da altri autori sostenuta e da me credo confermata con nuovi e più precisi argomenti (4), che le cosiddette piastrine degli ovipari siano veri e propri elementi della serie leucocitaria (come anche *Bizzozzero* (5) aveva supposto al principio delle sue classiche osservazioni su questo argomento) e che perciò si debbano, ammettendo la loro partecipazione alla formazione dei trombi, chiamare « tromboleucociti ».

Wright fatte sempre sopra materiale freschissimo raccolto per la fissazione ad animale appena ucciso.

Prendendo punto di partenza da questa conferma di *Schridde*, *Ogata* (8) cercò pure di controllare le osservazioni di *Wright* e come questi adoperò prevalentemente materiale fresco preso da conigli, gatti, topi, appena sacrificati. Tra questi animali trovò specialmente opportuno il coniglio giovane e la maggior parte dei reperti da lui riferiti (e che del resto egli assicura essere sempre identici nelle tre specie degli animali ricordati) sono appunto di questo animale. *Ogata* non riuscendo ad ottenere preparati col metodo di *Wright* si attenne a quello di *Schridde* (fissazione in formolo Müller, colorazione coll'Azzurro II ed Eosina). Con tale metodo egli conferma pienamente le osservazioni di *Wright*. Infatti nei megacariociti degli animali normali all'interno del nucleo ed in una larga zona circostante egli trova granuli fitti e minuti che si colorano in rosso violetto. Talora sono disposti uniformemente, tal altra a piccoli gruppi separati da una zona ialina azzurro-pallida tanto che si ha nell'insieme l'aspetto di un reticolato. All'esterno si ha sostanza ialina a margini lisci o dentati. Da questi megacariociti vede originarsi dei prolungamenti più o meno grossi (specialmente dagli elementi che hanno aspetto reticolato ed in questi dal lato più prossimo a qualche vaso vicino) ora ottusi, ora appuntiti, ora dentati. Questi prolungamenti sembrano pseudopodi di amebe ed anche in essi si vedono i granuli raggrupparsi a mucchietti talora molto stipati. Questi mucchi sono la diretta continuazione delle masse granulari poste all'interno della cellula e sono sempre contornati da sostanza ialina e i loro granuli non si colorano coi colori nucleari ma solo coll'Azzurro II ed Eosina. Si vede poi che i prolungamenti si spingono attraverso le pareti dei vasi e sporgono nel loro lume e nel loro interno si vanno sempre più differenziando e successivamente si staccano piccole formazioni che hanno al centro una massa di granuli colorati, alla periferia un alone ialino, si individualizzano cioè in formazioni che hanno tutti i caratteri morfologici e cromatici delle piastrine del sangue. *Ogata*

poi, provocando delle anemie con ripetuti salassi, osserva che quanto più questi sono abbondanti tanto più aumentano e le piastrine circolanti e i megacariociti nel midollo e questi presentano più spesso l'aspetto reticolato e numerosi ed evidenti prolungamenti che penetrano nei vasi vicini ad immettervi le piastrine neoformate. *Ogata* ancora descrive gli stessi fatti nei megacariociti del fegato embrionale e in quelli di animali iniettati con stafilococchi ed infine ricorda come anche nei casi di leucemia mieloide, nei quali si nota un aumento di piastrine circolanti, si ha anche un aumento nei megacariociti del midollo e questi presentano tutti i ricordati segni della loro attività piastrino-formatrice. *Ogata* correda il suo lavoro con figure nitide e chiaramente dimostrative per cui nell'insieme possiamo dire che egli ci dà una sicura conferma delle osservazioni di *Wright*.

Una nuova conferma recentemente ci è data anche da *Naegeli* (9) il quale, dopo aver trovato un rapporto costante tra l'entità dei processi iperplastici del tessuto mieloide ed il numero dei megacariociti nel sangue circolante (tanto che i megacariociti sono molto numerosi in circolo nelle mielosi croniche, meno nella policitemia quasi mancanti nelle leucocitosi, mancanti nelle linfoadenosi), dimostra nel loro protoplasma, sopra preparati di sangue per striscio e colorati col Giemsa, fine e numerose granulazioni, assolutamente analoghe alle granulazioni azzurrofile delle piastrine perchè identiche relativamente alla colorabilità: sono però più fine nei megacariociti che non presentano prolungamenti, mentre nei prolungamenti dove si vanno disponendo a colonna si ingrossano formando così tutte le forme di passaggio per arrivare alle grosse granulazioni delle piastrine. *Naegeli* è quindi indotto ad ammettere la teoria di *Wright* per quanto faccia ancora qualche restrizione e ritenga necessarie nuove prove. Trova infine molto suggestivo il fatto che nell'an. per. progressiva si abbia costantemente una diminuzione delle piastrine circolanti mentre si vanno facendo sempre più rari i megacariociti del midollo.

Concordano invece meno colle osservazioni di *Wright* quelle recentissime di *Oelhafen* (10). Questi in un esteso lavoro sui megacariociti del sangue circolante su preparati per striscio, dopo alcune osservazioni sulla struttura del nucleo, venendo alla descrizione del loro protoplasma trova che questo, colorato col Giemsa, presenta una zona concentrica al nucleo di fine granulazioni azzurrofile che riempiono le maglie sottili formate da una sostanza ialina puramente basofila che costituisce poi uno strato omogeneo periferico al citoplasma. Nel sangue circolante, egli dice, raramente pervengono, attraverso il circolo polmonare, megacariociti ben conservati in tutta la loro massa protoplasmatica, però per i frammenti di protoplasma che ancora conservano e presentanti i caratteri sopra ricordati, si possono sempre identificare. L'A. li trova costantemente nelle mielosi croniche, con minor frequenza nella mielosi aleucemica, nella policitemia, nell'avvelenamento da Pb, mentre nella leucemia mieloide acuta, nelle malattie infettive non si trovano mai. Riferendosi poi alla teoria di *Wright*, sostiene che le granulazioni delle piastrine sono più grossolane e molto più azzurrofile di quelle dei megacariociti e meno uniformi e lucenti. Non trova poi mai nei megacariociti circolanti pseudopodi e gli strozzamenti descritti da *Wright* e da *Ogata*, ma solo delle piastrine accidentalmente addossate all'orlo dei megacariociti. Conclude che la genesi delle piastrine si deve ricercare per altra via che non sia quella della semplice identificazione delle granulazioni. A me sembra che le reticenze di questo A. siano ingiustificate giacchè egli ha studiato megacariociti staccati dalla loro sede naturale, dopo di essersi alterati passando attraverso al piccolo circolo polmonare, presentanti quindi lesioni sensibili nella loro massa protoplasmatica che ha bisogno di un perfetto stato di conservazione perchè vi si possano mettere in rilievo quei fini particolari strutturali sui quali si può basare la dimostrazione della origine delle piastrine dai megacariociti.

La geniale teoria di *Wright*, dunque, esposta fin dal 1906, confermata successivamente da *Ogata* e da *Naegeli*, fu male accetta dagli altri autori e noi ne abbiamo una prova evi-

dente nei più recenti trattati di ematologia che o la trascurano affatto o ne danno una semplice citazione, mentre alle altre note e trite teorie dell'origine delle piastrine dai globuli rossi o dai globuli bianchi, ecc. (che sono di troppo comune conoscenza per essere ora ricordate) è data larga parte e ne abbiamo una prova anche nelle molte monografie recenti sulla genesi delle piastrine nelle quali la teoria di *Wright* o è dimenticata o non è tenuta nel debito conto.

Tra le tante monografie su questo argomento ricordo solamente quella di *Foti* (11) perchè questa ha stretta attinenza coll'origine delle mie presenti osservazioni. *Foti* avvelenando dei conigli con iniezioni di pirodina e seguendo poi con opportuni conteggi (fatti con un suo metodo che deriva con qualche modificazione da quello proposto da *Aynaud*) (12) il comportamento numerico dei globuli rossi e delle piastrine, osserva che dopo una diminuzione di piastrine (immediatamente seguente alla iniezione endovenosa di pirodina) segue dopo una mezz'ora un forte aumento numerico nelle piastrine stesse le quali si fanno contemporaneamente giganti. Questa « piastrinosi gigante » è accompagnata da una diminuzione di globuli rossi e il numero dei globuli scomparsi sarebbe uguale al numero delle piastrine neoformate. Da ciò *Foti* conclude che le piastrine derivano da una diretta trasformazione dei globuli rossi. Ora parendomi che la conclusione di *Foti*, per quanto ingegnosa, non fosse sufficientemente dimostrativa, perchè la derivazione delle piastrine dai globuli rossi era unicamente basata sopra una variazione numerica, senza alcuna ricerca morfologica delle forme di passaggio che pur tra globuli rossi in via di alterarsi e di trasformarsi e piastrine di nuova formazione, dovrebbero esistere, volli ripetere le sue esperienze. Fu così che avendo degli animali avvelenati con la pirodina (le mie osservazioni si riferiscono a dieci conigli, 12 gatti e 2 cavie) e che presentavano un forte aumento numerico delle piastrine circolanti volli esaminarne il midollo a controllo delle ricordate esperienze di *Wright* e di *Ogata*. Il risultato di questo mio controllo fu il seguente:

1° Negli animali avvelenati con la pirodina (io ho adoperati i conigli per mettermi esattamente nelle condizioni di *Foti* ed i gatti perchè usati da *Wright* e perchè anche per mia personale esperienza questi sono gli animali nei quali le piastrine danno le più belle immagini) noi otteniamo veramente, a varia distanza di tempo dall'iniezione, delle variazioni numeriche sensibili nelle piastrine del sangue circolante. Ad una prima diminuzione segue un rapido aumento accompagnato anche da variazioni nel loro volume, si ha la comparsa cioè di molte piastrine giganti. Non ho mai osservato però che queste, come dice *Foti*, si trovino in maggioranza. Durante tutto il tempo nel quale si compie questa piastrinosi, esaminando il sangue sia a luce diretta, sia in campo oscuro all'ultramicroscopio, tanto a fresco senza aggiunta di colore, quanto colorato a fresco o fissato e successivamente colorato, non si osservano mai forme di passaggio tra i globuli rossi e le piastrine. I globuli rossi, prima, durante e dopo la piastrinosi, conservano netti ed immutati i propri caratteri cromatici e morfologici, per cui, non potendo ammettere che questa trasformazione avvenga istantaneamente, dobbiamo, dal punto di vista istologico, assolutamente rifiutarla, ammettendo invece che le variazioni numeriche tra globuli rossi e piastrine, se pure in via accidentale inversamente proporzionali, non possano dimostrare alcun rapporto genetico tra globuli rossi e piastrine.

2° L'origine delle piastrine dai megacariociti, nel midollo degli animali avvelenati con la pirodina ed esaminati nel periodo della intensa piastrinosi, è costantemente e nettamente dimostrabile.

Mi diffonderò dunque ora ad illustrare questa seconda conclusione, tale essendo lo scopo di questo mio presente lavoro.

Iniziati i miei esperimenti e persuaso subito che successivamente alle iniezioni di pirodina si osserva negli animali un aumento sensibile nel numero delle piastrine, pensai di raccogliere il midollo di questi animali, a vari periodi di tempo dall'iniezione, per seguire le varie e successive fasi

che si dovevano osservare, secondo la teoria di *Wright* nei megacariociti del midollo. Per quanto io abbia raccolto preferibilmente il midollo del femore, non mancai di estendere le mie ricerche anche al midollo di altre ossa lunghe (omero, tibia) ed al midollo di ossa spugnose (sterno, scapola). Parte di questa sostanza midollare raccolsi nei fissativi già consigliati da *Wright* e da *Ogata*, parte l'adoperai per allestire subito dei preparati per striscio che fissai e colorai immediatamente. Essendomi subito persuaso come con questo ultimo metodo (che vedo ora è stato adoperato anche nelle recenti ricerche da me ricordate di *Naegeli*) si ottengono delle ottime immagini, che sono delle immagini ottenute dalle sezioni di pezzi fissati, degno complemento e chiarissima conferma, mi attenni poi più specialmente a questo metodo, come risulta da quanto verrò ora esponendo.

Mia prima cura intanto fu quella di ottenere preparati per striscio nei quali la perfetta conservazione degli elementi ed una loro omogenea distensione permettesse una ottima colorazione. I preparati di midollo generalmente, più che per striscio, si fanno per dilacerazione di un pezzo del cilindro midollare della diafisi, con successivo schiacciamento e stiramento della poltiglia così ottenuta. Questo procedimento è troppo grossolano e non serve al nostro scopo e specialmente alterati ne restano i megacariociti anche quando degli altri elementi della serie emoglobinica e della serie leucocitaria si ottengono discrete immagini. Perchè lo striscio di sostanza midollare riesca bene occorre una goccia succosa e facilmente fluente del midollo che si possa distendere nell'angolo acuto formato dalla superficie del porta-oggetti, che si tiene fisso, e il margine libero del copri-oggetti, che vi si fa scorrere sopra strisciando per distendere omogeneamente la goccia stessa, così come si fa con una goccia di sangue. Quando questo s'ottenga di fare (ed è buona avvertenza di immergere il copri-oggetti che si adopera per la distensione, in paraffina dura fusa, ché si lascia poi naturalmente raffreddare, tanto che il suo margine libero in contatto cogli elementi midollari perde molto della sua naturale asperità) anche dei megacariociti si ottengono delle bel-

lissime immagini, che permettono di mettere in rilievo anche le più fini particolarità di struttura dei nuclei e specialmente del citoplasma e dei suoi prolungamenti. Per procurarci questa goccia di midollo succoso il mezzo migliore si è quello di spremerlo attraverso le fini trabecole ossee di un osso spugnoso, come si può fare sia premendo fortemente sull'osso spugnoso delle estremità articolari delle ossa lunghe, denudate dal loro rivestimento cartilagineo, sia sezionando l'osso lungo all'estremità della sua diafisi e dove questa presenta ancora delle spicule ossee che ne traversano la cavità midollare. L'ottimo di queste condizioni si ha scegliendo come animale il gatto giovane (da uno a due mesi) e premendo fortemente sull'estremità della diafisi del femore, liberato dalla sua epifisi, in modo che il cilindro midollare sia forzato a passare tra le trabecole ossee che lo dissociano, senza alterarne gli elementi. Questo midollo è facilmente misto a sangue e questa mescolanza ne facilita la distensione. Gli strisci così ottenuti, li fissai col May-Grünwald e li colorai successivamente col Giemsa, attenendomi con buon resultato alle modificazioni tecniche suggerite dal *Ferrata* (13) nel suo trattato, appunto quando parla della colorazione del midollo col metodo May-Grünwald-Giemsa. Importante specialmente si è che la miscela di Giemsa sia fortemente diluita e che la sua azione si prolunghi oltre alla mezz'ora. Nei migliori preparati così ottenuti, come succede del resto anche per gli strisci del sangue, non tutti i campi di osservazione sono egualmente buoni, se ne hanno però di tali che sono veramente chiarissimi, nei quali gli elementi fissati e omogeneamente distesi, e comprendiamo fra questi anche i megacariociti, danno delle immagini bellissime nelle quali sono visibili le più fini particolarità di struttura. Il vantaggio poi di questi ottimi preparati è anche quello che dopo d'avere imparato da questi a riconoscere i megacariociti nella loro struttura normale e nelle modificazioni della loro struttura dipendenti dalla loro attività funzionale, noi educhiamo l'occhio a riconoscere gli stessi elementi o parti staccate di questi elementi anche in preparati meno riusciti e meno dimostrativi.

I megacariociti degli animali normali (presi cioè prima dell'esperimento) nei preparati di midollo allestiti con la tecnica sulla quale ho creduto utile di diffondermi, presentano gli stessi aspetti e gli stessi particolari di struttura, quali noi abbiamo in addietro ricordati ricavandoli dalle osservazioni di *Wright* e di *Ogata*. Nella abbondante massa protoplasmatica che circonda il nucleo noi vediamo numerosissimi granuli azzurrofili tinti di un bel rosso leggermente violaceo. Questi granuli sono specialmente stipati nella zona perinucleare e vanno diradando alla periferia dell'elemento dove questo presenta un aspetto ialino diffusamente e debolmente azzurro (basofilo). Talora il contorno dell'elemento è regolare, tal altra ondulato e dentellato, tal altra ancora presenta un grosso prolungamento laterale raramente molto lungo, più facilmente troncato poco dopo la sua origine. La parte assiale di questo prolungamento presenta pure un addensamento di granuli azzurrofili simili ai sopradescritti mentre la sua parte periferica è ialina. Anche in questi midolli normali accade poi di vedere:

1° In alcuni elementi la massa granulare si va disponendo a serie di granuli variamente intrecciate fra loro che assumono un decorso parallelo avvicinandosi al grosso prolungamento laterale.

2° Nella massa granulare si vengono formando dei piccoli spazi chiari rotondeggianti nei quali la parte periferica è ialina, leggermente azzurrognola e la parte centrale risulta da un piccolo gruppo di granuli azzurrofili fortemente avvicinati tanto da formare una massa pseudo-nucleare.

3° Anche alla periferia del megacariocita noi vediamo differenziarsi e staccarsi piccole masse di granuli azzurrofili contornate da protoplasma ialino.

Si vedono così nello stesso preparato megacariociti uniformemente granulati, altri con un aspetto leggermente reticolato del protoplasma granulato, altri con una o due formazioni differenziate, quali abbiamo sopra descritto, sia al centro, sia alla periferia, altri ancora rarissimi con parecchie di queste formazioni.

Queste masse centrali o periferiche differenziate sono assolutamente simili per il loro volume, per la forma e colorabilità dei loro granuli e per la forma e colorabilità della parte ialina periferica, alle vere e proprie piastrine colorate col metodo di May-Grünwald-Giemsa, negli strisci di sangue circolante presi dall'animale stesso prima della morte.

In preparati invece di midollo preso da animali in istato di attiva piastrinosi, provocata dalle iniezioni di pirodina, noi vediamo che i megacariociti presentano delle notevoli modificazioni al quadro ora descritto. I megacariociti intanto aumentano sensibilmente di numero, tanto che per ogni campo di osservazione se ne vede un numero maggiore di quello che comunemente si trovi nel midollo normale. Aumentano anche proporzionatamente i megacariociti che presentano una disposizione reticolata del loro protoplasma con addensamento dei granuli azzurrofili nelle maglie di questo reticolo ed aumentano i megacariociti che presentano differenziazione centrale e periferica delle piccole masse già descritte e compaiono in molti di essi dei prolungamenti laterali a forma di pseudopodio nella cui parte interna si vengono differenziando le piccole masse granulari a contorno ialino, simili alle piastrine. In altri megacariociti si vedono questi prolungamenti protoplasmatici terminare con un grosso ammasso di piastrine. In questi midolli si trovano anche ammassi di piastrine sia strettamente addossati al megacariocita dal quale si sono originate, sia libere tra gli altri elementi e quali non avviene mai di poter colorare e dimostrare nel midollo normale, ed ancora nuclei di megacariociti (quasi questi elementi per l'attiva produzione di piastrine si fossero liberati di tutta la loro massa protoplasmatica) si trovano liberi tra gli altri elementi.

Nei miei preparati, anche i più dimostrativi, non ho mai potuto dimostrare un rapporto fra questi prolungamenti protoplasmatici ed i vasi capillari del midollo. Questo dipende certo dalle manualità tecniche che si adoperano nel-

l'allestire i preparati e che vengono ad interrompere il diretto rapporto dei megacariociti coi vasi, come si può chiaramente dimostrare nei preparati fissati.

Ho cercato anche di studiare questa attiva produzione di piastrine in animali salassati, ma fino ad ora non ho in questi avuto risultati migliori di quelli che ho descritti e che si ottengono negli animali iniettati di pirodina.

Dall'insieme di questi fatti, che ho ora rapidamente descritti, (e le nitide figure che illustrano il mio lavoro sono fedelissime riproduzioni dei megacariociti da me osservati) io ritengo dunque che anche dai preparati per striscio di midollo normale e di midollo in intensa piastrinosi si possono trarre buoni argomenti a sostegno della teoria di *Wright*. Io escludo assolutamente che i miei reperti possano essere puramente accidentali e che le formazioni da me descritte possano essere interpretate come prodotti artificiali piuttosto che come l'espressione di una vera e propria attività funzionale. Mai in nessun midollo normale io potei osservare una così abbondante produzione di piastrine, sia nella massa protoplasmatica del megacariocita, sia nei suoi prolungamenti, e così numerosi ammassi di piastrine libere tra gli altri elementi del midollo, come nei miei animali iniettati di pirodina ed in stato di piastrinosi intensa. Per quanto poi il gatto sia l'animale di elezione per lo studio delle pastrine circolanti e quindi anche di questi fatti di neoproduzione di piastrine nel midollo, debbo dire che anche nei conigli e nelle cavie si possono ottenere gli stessi reperti con altrettanta chiarezza. Aggiungo infine che, essendomi stata offerta occasione di esaminare del midollo umano freschissimo, preso dall'arto di un amputato, ho potuto ottenere con questo dei bellissimi preparati per striscio nei quali i megacariociti dimostrano gli stessi particolari di struttura e le stesse modificazioni indice della loro attività formativa delle piastrine. Avendo dovuto ora forzatamente interrompere queste mie ricerche, alle quali tornerò con piacere per completarle ed estenderle, ho creduto utile di darne questa succinta relazione e perchè altri si metta su questa diritta via nello studio delle piastrine e per-

chè mi pareva che la teoria di *Wright*, presa fino ad ora in tanto scarsa considerazione, fosse invece meritevole di essere seriamente considerata da tutti gli ematologi.

Possiamo dunque concludere:

1° Noi oggi dobbiamo ritenere per vera e dimostrata la origine delle piastrine dai megacariociti direttamente per una differenziazione del loro citoplasma.

2° Alla dimostrazione di questa origine, data da *Wright* e confermata da *Ogata*, sopra sezioni di midollo fissate ed opportunamente colorate, possiamo oggi aggiungerne un'altra altrettanto chiara che si può ottenere sopra strisci di midollo fissato e colorato col metodo di May-Grünwald-Giemsa.

3° L'animale di elezione per queste ricerche è il gatto giovane ed un ottimo artificio sperimentale per rendere più evidente questa diretta derivazione delle piastrine dai megacariociti (che del resto è visibile anche nel midollo degli altri mammiferi) si è quella di determinare nel suo sangue una intensa piastrinosi con l'iniezione di pirodina.

14 luglio 1914.

Lavori citati.

1 I. H. Wright — Virch. Arch. - Bd. 186, p. 55.
2 Id. — Publ. of the Massachusetts General Hospital Boston - Volume III, n. 1, 1910.
3 Id. — Journ. Med. Research. - Vol. VII, p. 128, Jan. 1902.
4 A. Cesaris Demel — Arch. per le Sc. Med. - 1911.
5 Bizzozero e Torre — Arch. per le Sc. Med. - 1888.
6 H. Schridde — Sitzungsber. d. Ges. zur Beförd. d. ges. Naturvissenschaften, Marburg. - Dez. 1905.
7 Schridde — *Die Knochenmarks-Riesenzellen des Menschen. Sonderabdruck aus den anatomischen Heften, Herausgegeben von t. R. Merkel in Göttingen m. d. R. Bonnet*, in Greifswald, H. 99, Bd. 33 - 1905.
8 Ogata — Ziegler's Beiträge - 1912, Bd. LII.
9 Nâgeli — Centr. f. Allg. Path. - Bd. XXV, n. 10, 31 Mai 1914.
10 H. Oelhafen — Folia Haem. - Bd. XVIII, H. 3, Mai 1914.
11 A. Foti — Arch. di fisiologia - Vol. XI, fasc. VI, 1913.
12 Haynaud — *Le globulin des mammiferes* - Ed. Steinheil Paris, 1909.
13 Ferrata — *Morfologia del sangue normale e patologico* - Soc. Edit. Libraria, 1912.

Nota. — Colmando un'involontaria lacuna della parte bibliografica aggiungo ora che già nel 1912, in una interessante conferenza « Sul concetto moderno della trombosi » tenuta alla Associazione Sanitaria Milanese (e pubblicata poi nella *Attualità medica*, 1912) *Foà* trattando della controversa questione sulla origine delle piastrine riferì di aver da tempo intraprese delle esperienze che lo avevano indotto ad accettare, per quanto ancora con qualche riserbo, che successive esperienze avrebbero tentato di dissipare, la teoria di *Wright*.

È interessante di ricordare come *Foà* studiò la questione sopra sezioni di midollo e come anch'esso ottenne le migliori immagini determinando sperimentalmente una sovraattività del midollo.

Spiegazione delle Figure

Fig. 1 — Megacariocita del midollo del femore di un gatto adulto normale. Nel suo citoplasma finamente granulato si vanno differenziando piccole formazioni granulari con contorno ialino, altre si vanno staccando dalla sua periferia. Le une e le altre sono simili alle piastrine del sangue circolante.

Fig. 2 — Megacariocita del midollo di coniglio giovane. Alla periferia dell'elemento si trovano molteplici piastrine che hanno stretti rapporti colla sua parte periferica.

Fig. 3 — Megacariocita del midollo di un gatto giovane innestato sottocute, 8 ore prima, con 5 cm³ di una soluzione di pirodina all'1 %. Nel citoplasma dell'elemento si vengono differenziando molteplici formazioni simili alle piastrine.

Fig. 4 — Megacariocita dello stesso animale. Si nota un prolungamento a forma di pseudopodio che termina con una espansione nella quale si stanno differenziando molteplici piastrine.

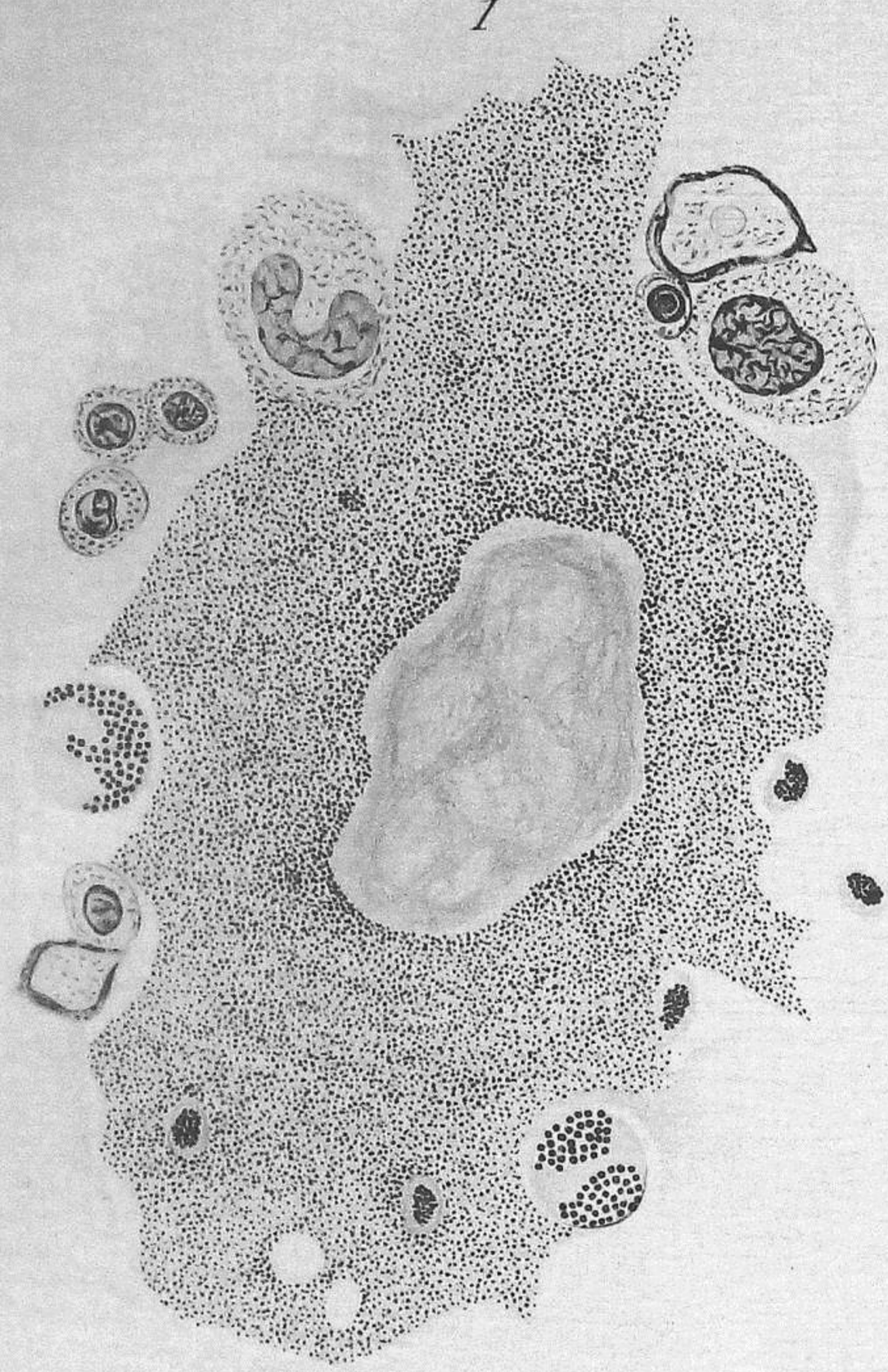
Fig. 5 — Megacariocita del midollo di un gatto giovane iniettato tre ore prima nelle vene, con tre cm³ di pirodina all'1 %. Si nota un prolungamento a forma di pseudopodio nel quale si vedono differenziarsi molteplici formazioni simili alle piastrine.

Fig. 6 — Megacariocita dello stesso animale che presenta piastrine nel citoplasma ed un grosso ammasso che ne interrompe la continuità.

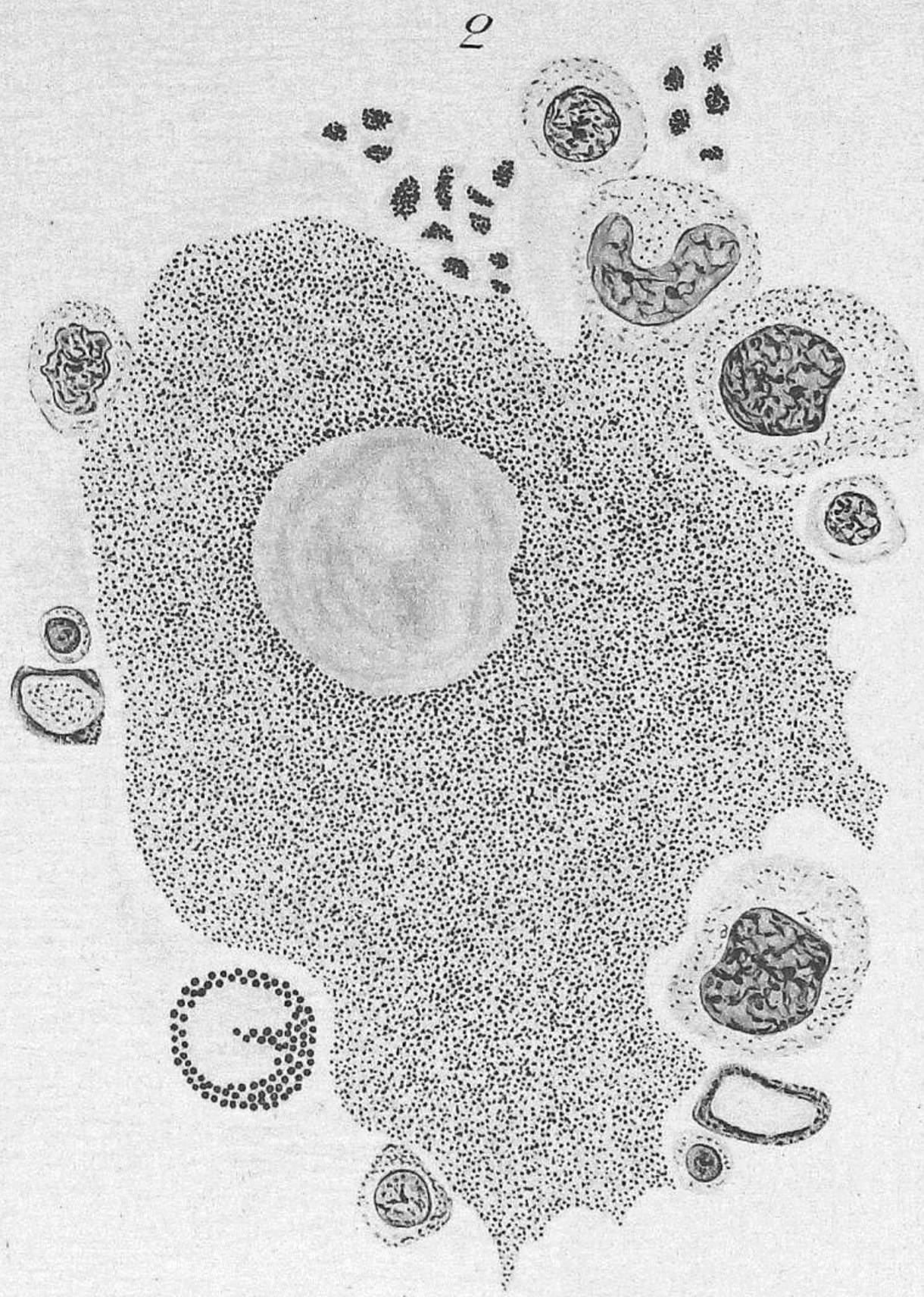
Fig. 7 — Megacariocita di gatto giovane, iniettato 5 ore prima nelle vene con 5 cm³ di pirodina all'1 % che presenta differenziazione di piastrine nell'interno ed al contorno del citoplasma.

Tutte queste figure sono ricavate da preparati di midollo fissati e colorati col metodo di May-Grünwald-Giemsa ed osservati coll'apocromatico Zeiss 1 :30 ed oculare compensatore 8.

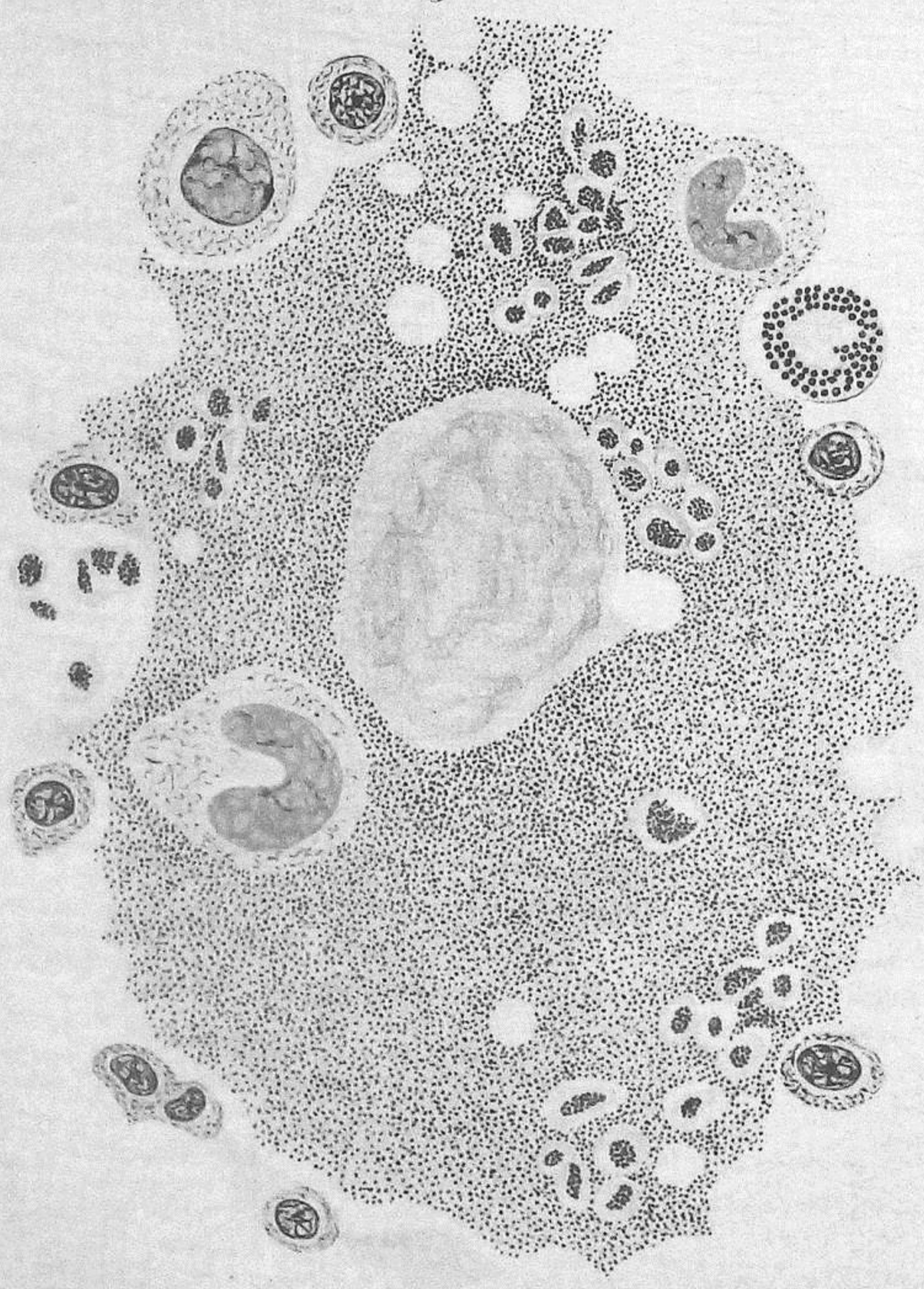
1



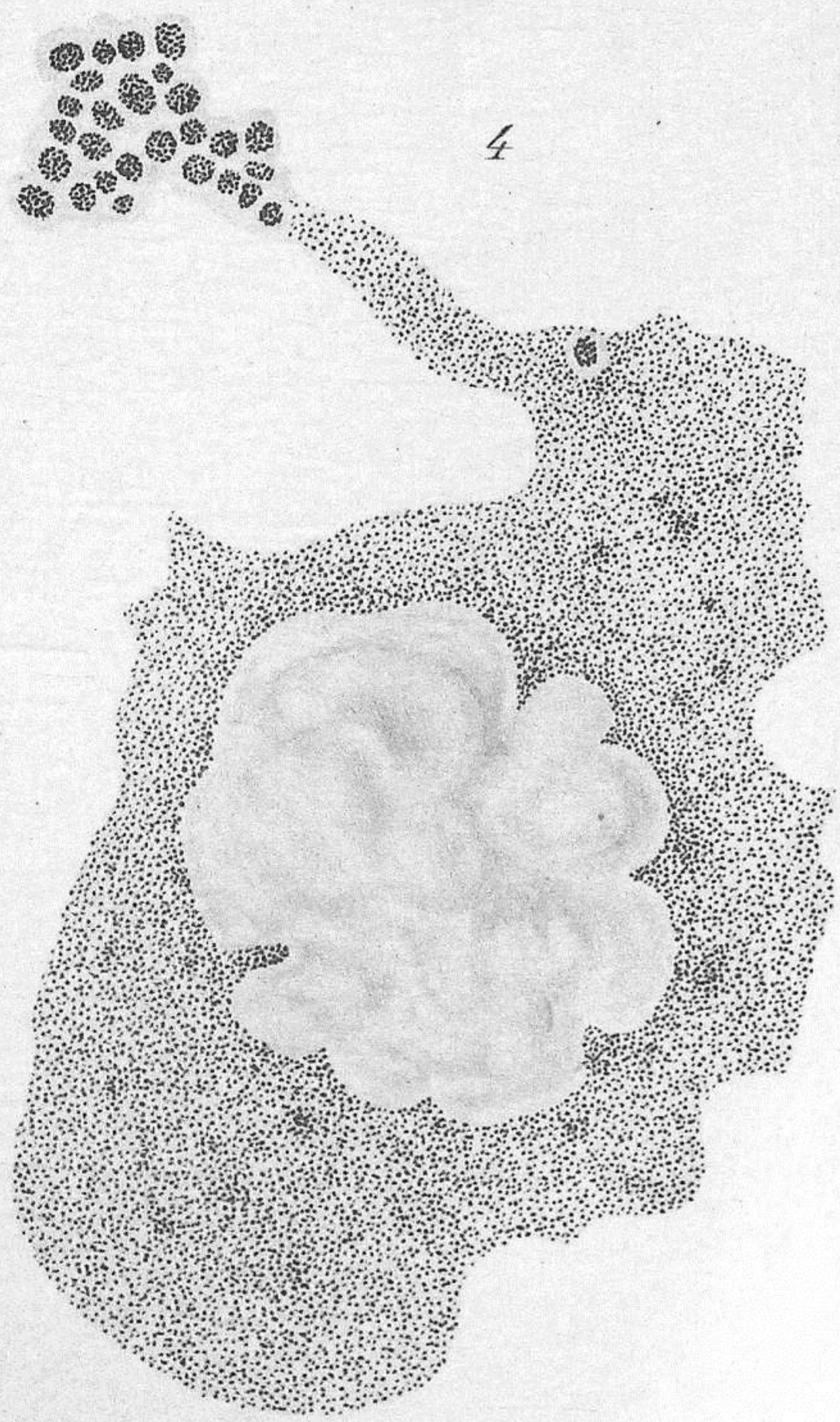
2

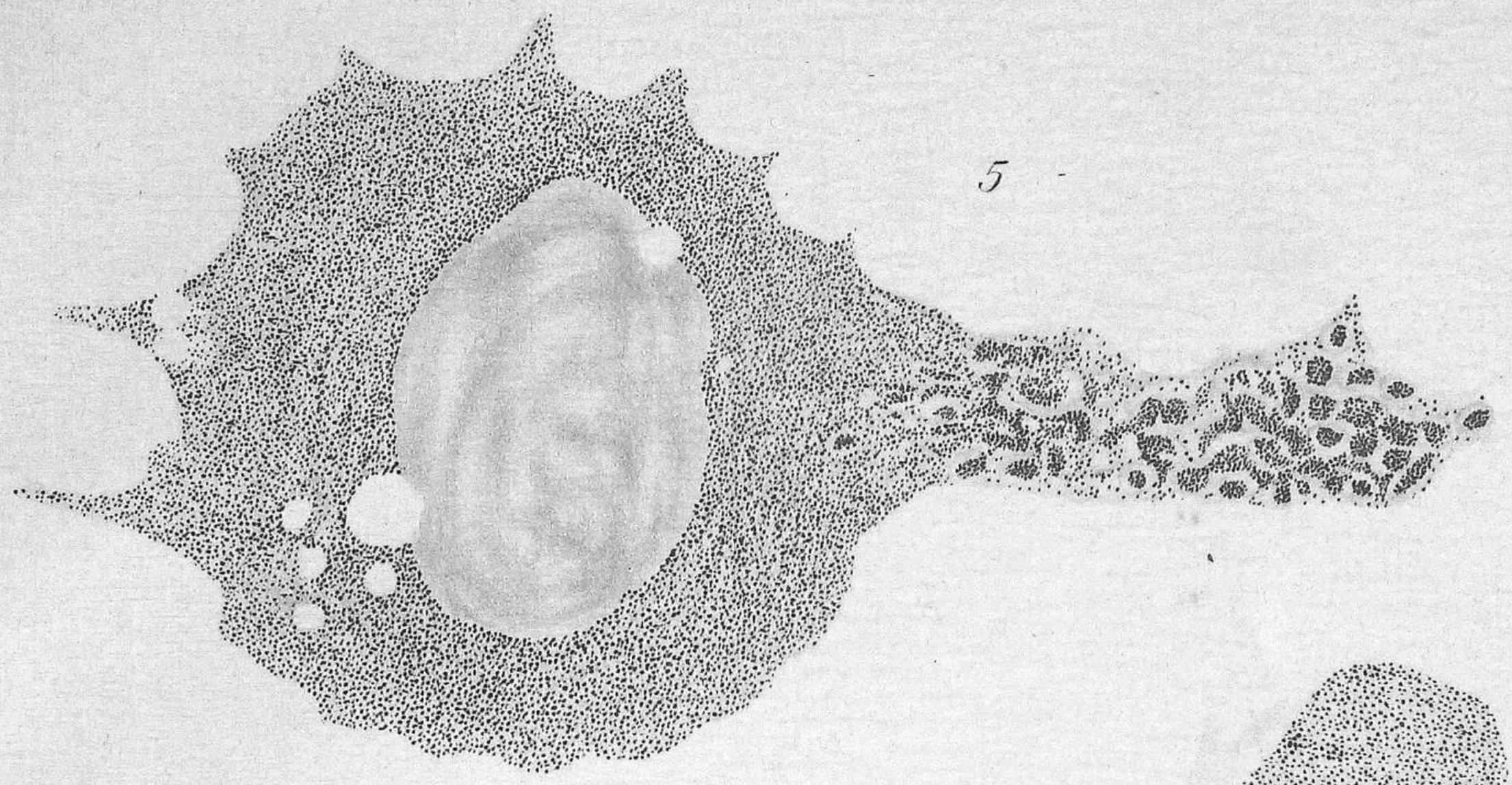


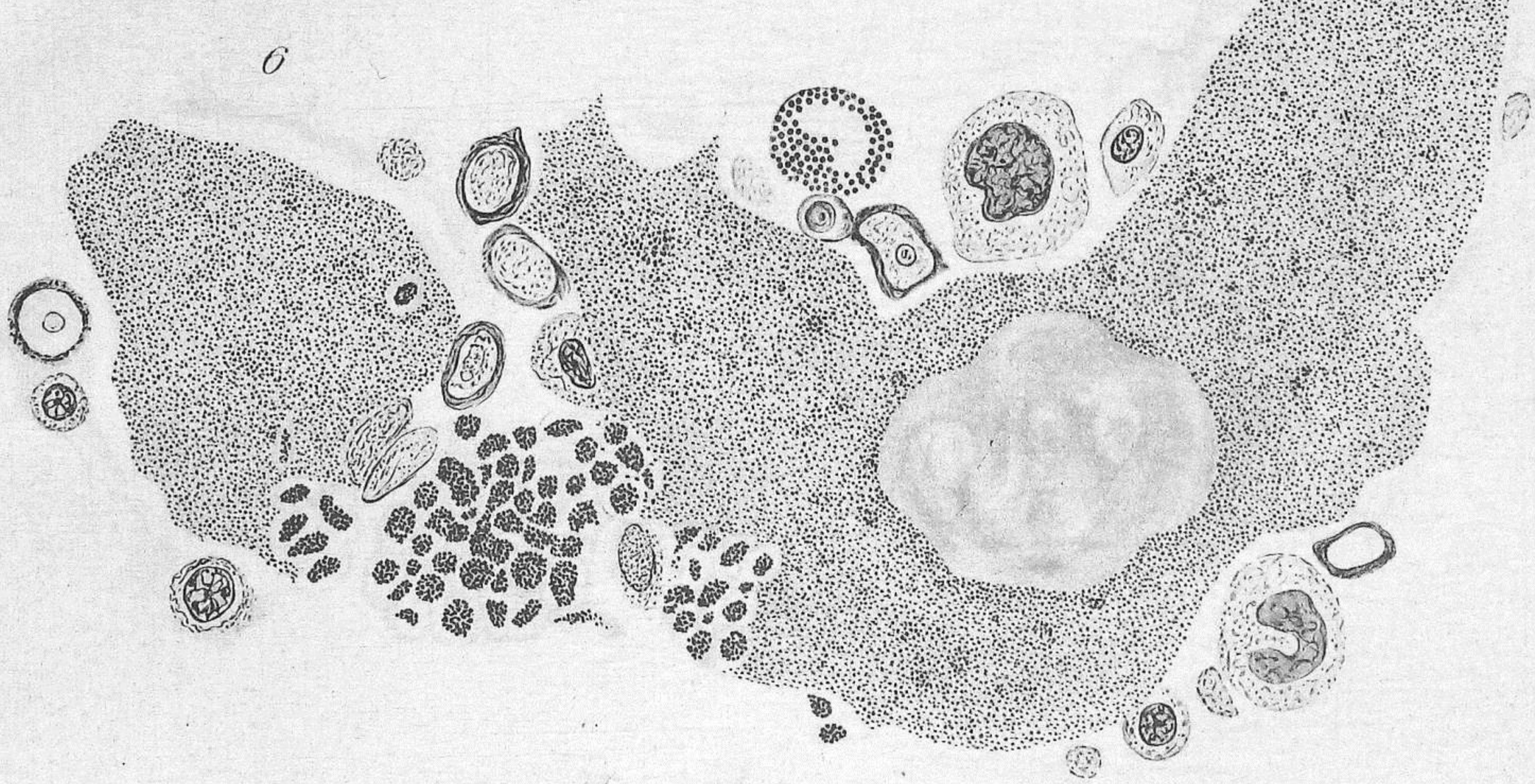
3

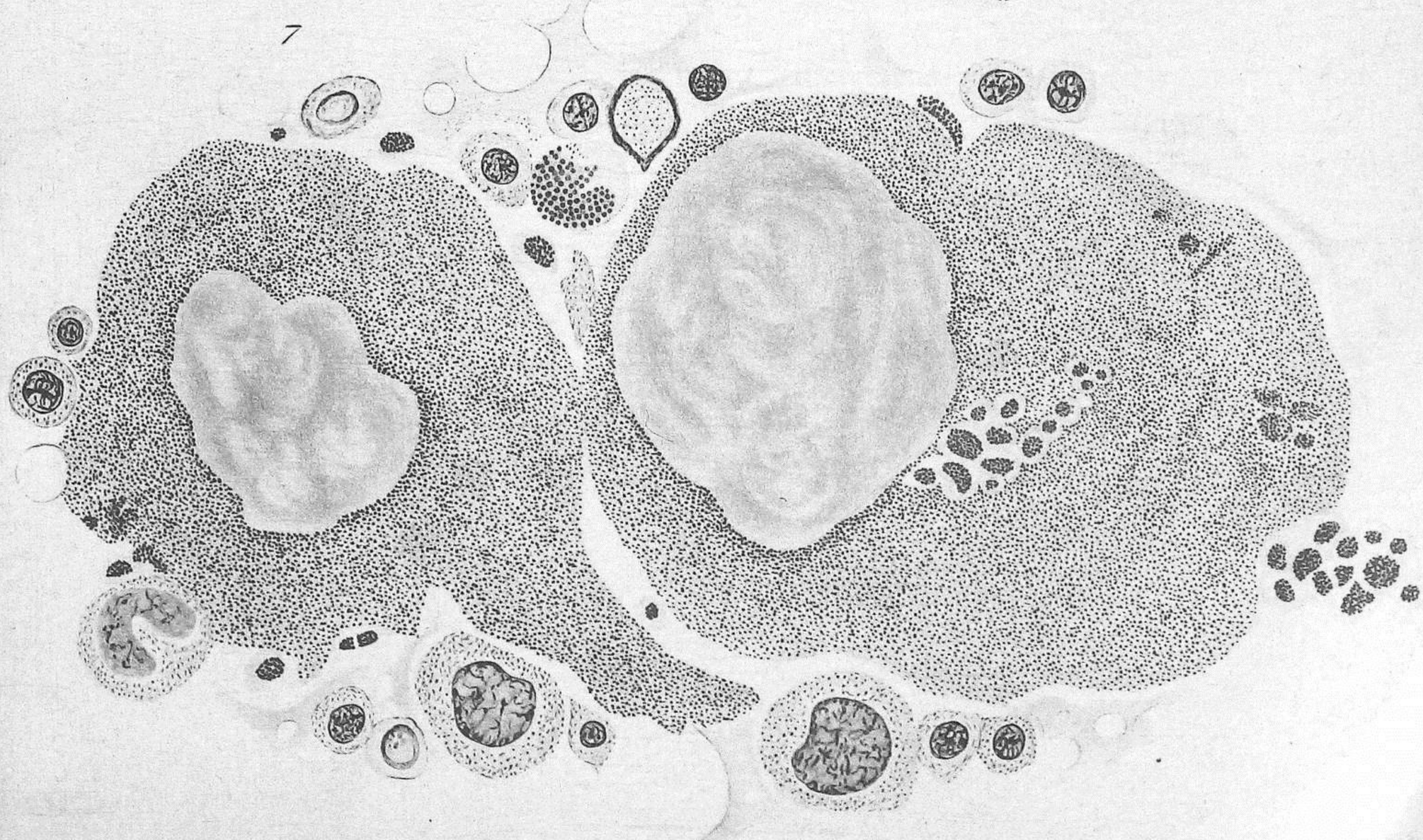


4




5


6


7